

CHAPITRE II. BIOMEMBRANES

A. Composition des membranes : isolement, composition

I. Isolement des fractions de « membrane plasmique »

Une cellule modèle : l'hématie. Ce type cellulaire permet une isolation facile de la membrane plasmique car il n'y a pas d'organite ni de noyau.

Méthode d'isolement

- Élimination par centrifugation du plasma pour ne récupérer que les globules rouges (GR) ;
- Ajout d'un milieu hypotonique, c'est-à-dire un tampon ayant une concentration en sel plus faible que celle de la cellule, donc l'eau se déplace selon la loi de l'osmose (du moins concentré vers le plus concentré) ;
- L'eau entrant dans le GR provoque une rupture de la membrane plasmique du GR qui se vide alors de son contenu intracellulaire (l'hémolyse des hématies) ;
- On fait une centrifugation pour éliminer le milieu et récupérer des « fantômes d'hématies » que sont les membranes des GR isolés. Une fois les membranes plasmiques isolées on étudie leur constitution chimique.

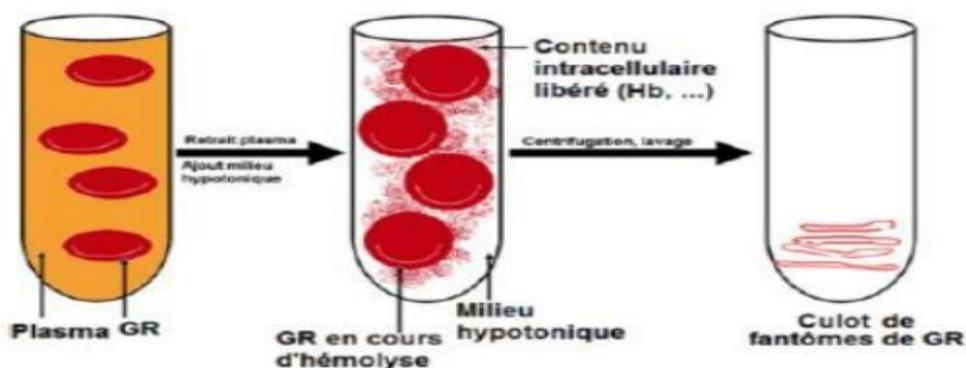


Figure II.1. Isolement de « fantôme », culot de membranes plasmiques, à partir d'hématies de mammifère [3].

II. Composition chimique de la membrane plasmique

II.1. Définition

La membrane plasmique est une fine barrière essentielle qui entoure le cytoplasme d'une cellule séparant ainsi les milieux extracellulaires et intracellulaires. Elle est constituée d'une double couche lipidique dans lesquelles s'insèrent de manière asymétrique et hétérogène des protéines.

En microscopie électronique on observe une tri-lamination de la membrane : un feuillet clair de 3 nm entouré par 2 feuillets sombres de 2,5 nm chacun ; l'épaisseur totale est donc d'environ 8 nm.

II.2. Composition des membranes

Les membranes sont constituées (en poids sec) de 40% de lipides, 52% de protéines et 8% de glucides. En prenant en compte la différence de poids existant entre ces classes de molécules, soit 50 molécules de lipides par molécule de protéine.

II.3. Diversités des lipides membranaires

Les lipides sont les composants majoritaires de la membrane plasmique et de l'ensemble des membranes biologiques. Pour chaque membrane d'organites, la proportion des différents types de lipides est variable, ce qui leur confère des propriétés fonctionnelles spécifiques. Au sein de la membrane les lipides sont présents sous différentes formes :

- **Les phospholipides** : sont les lipides prépondérants dans les membranes biologiques. Ils comportent une tête phosphorylée hydrophile et une queue formée de deux chaînes aliphatiques d'acides gras saturés ou non (molécules amphipathiques).

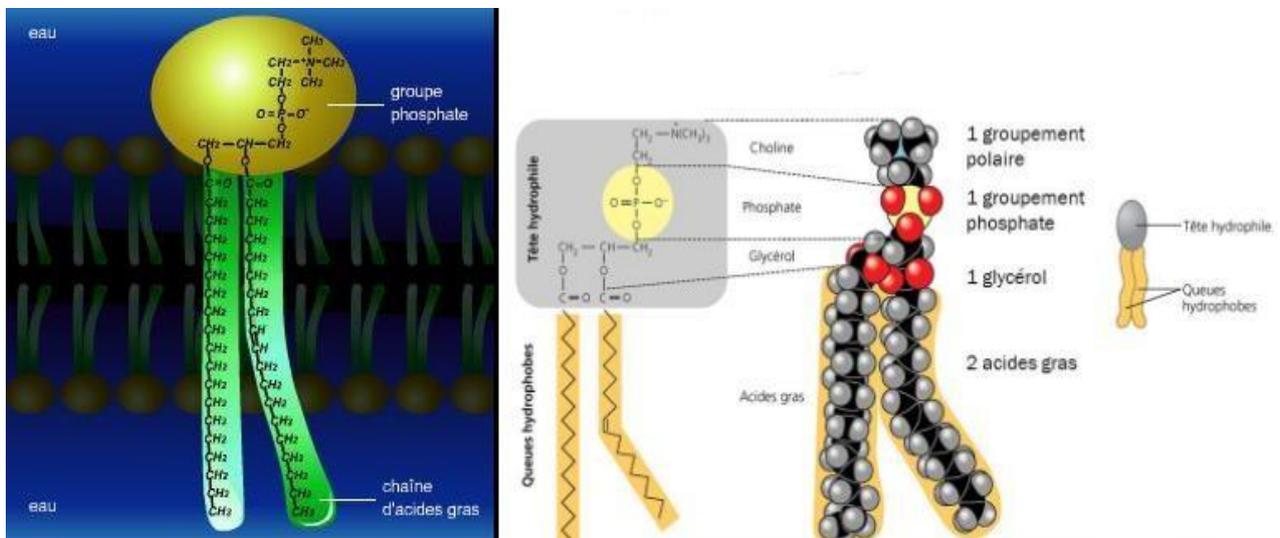


Figure II. 2. Représentation schématique d'un phospholipide à l'intérieur d'une bicouche lipidique [4].

- **Glycolipides** : lipides dont l'antenne oligosaccharidique est orientée vers le milieu extracellulaire. Les glycolipides jouent un rôle dans la reconnaissance moléculaire au niveau des membranes cellulaires. Quelques groupes de glycolipides : Galactolipide, Glycosphingolipide et Glycosylphosphatidylinositol.

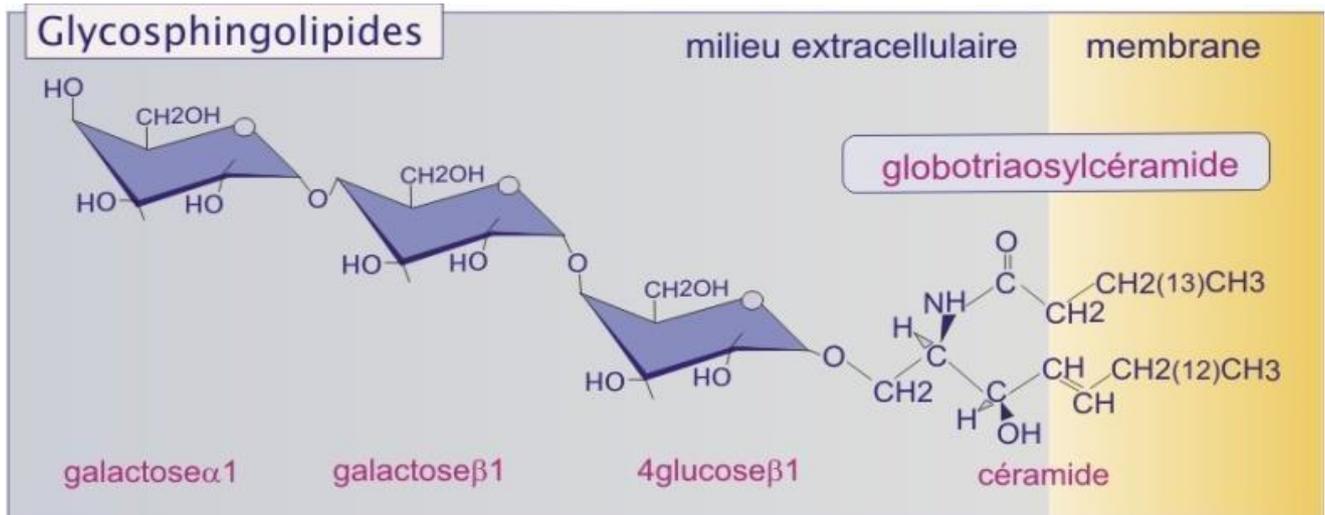


Figure II. 3. Glycolipide membranaire [5].

- **Cholestérol** : Un lipide de type stéroïde. Le cholestérol est uniquement présent dans les membranes des cellules animales. En effet, il est absent dans les cellules végétales et les bactéries. Il est composé d'un noyau stéroïde polycyclique hydrophobe, d'une queue hydrophobe et d'une fonction alcool hydrophile, donc amphiphile. Il représente environ un quart des lipides membranaires et influence la fluidité membranaire.

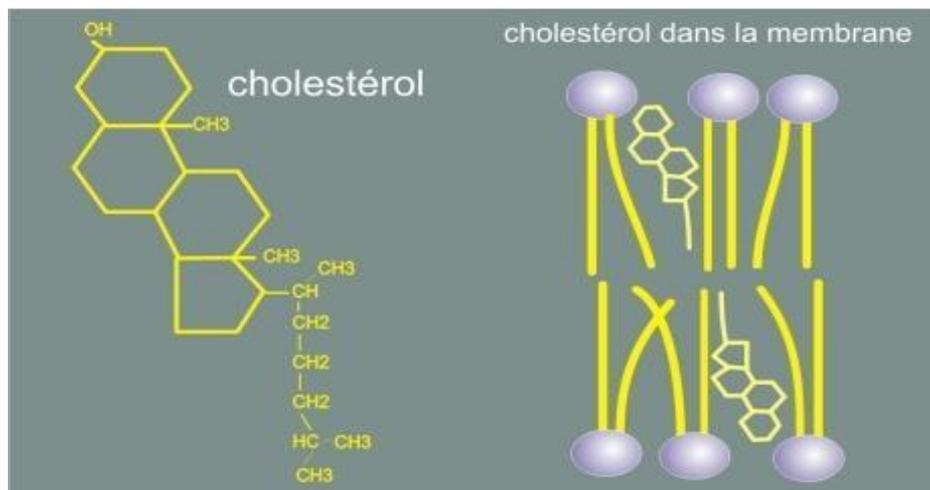


Figure II. 4. Cholestérol [5].

II.4. Diversités des protéines membranaires

De nombreuses protéines sont insérées dans les bicouches membranaires. Elles y jouent un rôle physiologique majeur, et sont responsables pour l'essentiel des activités caractéristiques des membranes : transport, reconnaissance, communication, adhérence. Les protéines sont associées à la membrane de différentes manières. Les protéines peuvent être soit intégrées à la membrane (intrinsèques ou trans-membranaires) ou encore accolées à la membrane (extrinsèques ou

périphériques) par des interactions électrostatiques ou des ancrages (lipidiques et glyco-lipidiques) et se déplacent constamment dans la membrane. On peut grouper les protéines membranaires en deux classes différentes :

II.4.1. Les protéines intrinsèques

Les protéines intrinsèques sont liées de manière très étroite à la bicouche lipidique et ne peuvent être détachées que sous l'action de détergents ou de solvants organiques qui détruisent l'organisation en bicouche lipidique. Elles peuvent se subdiviser en trois catégories :

- **Protéines transmembranaires** avec un ou plusieurs segments transmembranaires. Elles interagissent par des liaisons non covalentes, mais de forte énergie, avec les lipides par l'intermédiaire d'un domaine riche en acides aminés hydrophobes (phénylalanine, leucine, valine, tryptophane...) souvent organisés en hélice mais glycosylés au niveau de leur domaine extracellulaire.
- **Protéines ancrées aux lipides** : situées à l'extérieur de la bicouche lipidique, soit à la face extracellulaire, soit à la face cytoplasmique, mais unies par covalence à une molécule de lipide située au sein de la bicouche.

II.4.2. Les protéines extrinsèques

Les protéines périphériques sont entièrement situées à l'extérieur de la bicouche lipidique, soit à la face cytoplasmique, soit à la face extracellulaire, mais qui sont associées à la membrane par des liaisons non covalentes.

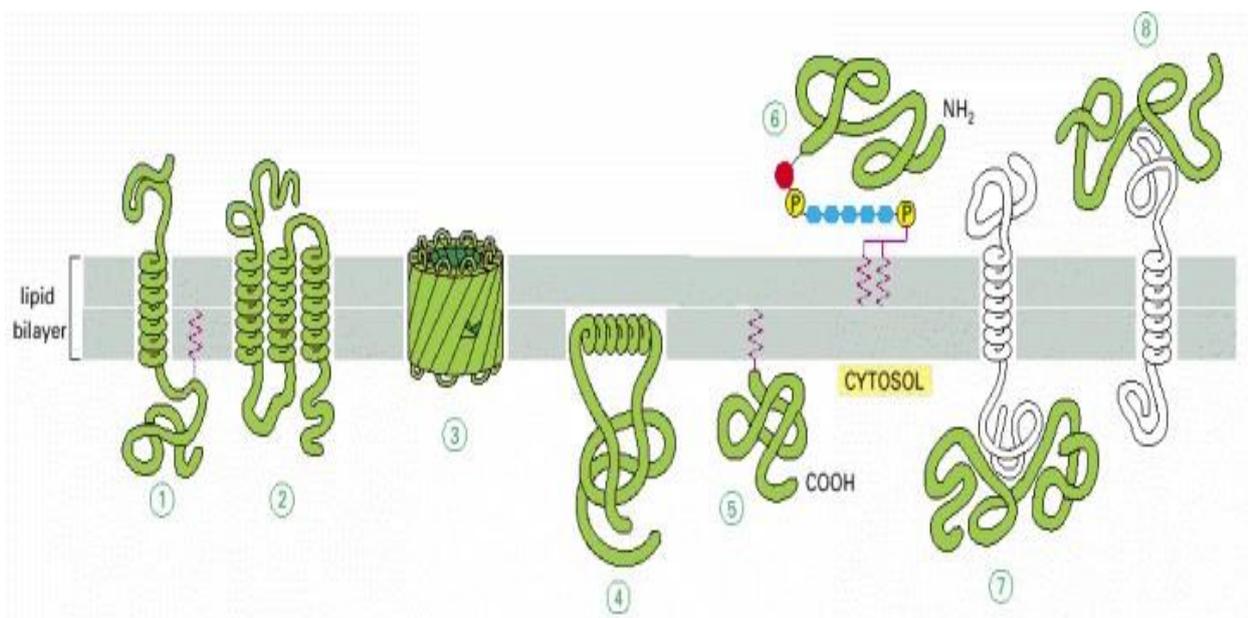


Figure II. 5. Différents modes d'association des protéines avec la bicouche lipidique [6].
 Protéines transmembranaires. (1) traverse la double couche sous la forme d'une hélice alpha. (2) traverse la double couche sous la forme d'hélice alpha multiple. (3) traverse la double couche sous la forme tonneau de feuillets beta. Protéines associées à un seul côté de la membrane. (4) ancrée par une hélice amphiphile. (5) liaison covalente avec un acide gras (cytoplasmique). (6) liaison covalente avec le glycosyl-phosphatidyl-inositol ou GPI. (7et 8) interaction non covalente avec d'autres protéines membranaires.

II.5. Diversités des glucides membranaires

Les glucides sont le troisième composant principal des membranes plasmiques. En général, ils se trouvent toujours à la surface extérieure des cellules et sont liés soit à des protéines (formant des glycoprotéines) soit à des lipides (formant des glycolipides). Ces chaînes de glucides peuvent être composées de 2 à 60 unités monosaccharides et peuvent être droites ou ramifiées. Ils ont des rôles physiologiques très importants et variés :

- Certaines familles de glycoprotéines interviennent dans les phénomènes d'adhésion des cellules entre elles et avec la matrice extracellulaire.
- Les antigènes des groupes sanguins A, B présents à la surface des globules rouges, sont des glycolipides dérivés de la sphingomyeline.
- Le galactocérebroside est le principal glycolipide de la myéline, présente autour de certains axones.

Tableau II.1. Les composants de la membrane plasmique [7].

Composant	Emplacement
Phospholipides	Élément principal de la membrane
Cholestérol	Niché entre les queues hydrophobes des membranes de phospholipides
Protéines intégrales	Incorporées dans la bicouche lipidique ; peuvent ou non s'étendre à travers les deux couches
Protéines périphériques	Sur la surface intérieure ou extérieure de la bicouche lipidique, mais pas intégrées à son cœur hydrophobe
Glucides	Attachés à des protéines ou des lipides du côté extracellulaire de la membrane (formation de glycoprotéines et glycolipides).

B. Architecture biomoléculaire des membranes

I. La bicouche lipidique

L'étude par microscopie électronique de coupes membranaires fines marquées à l'aide de tétraoxyde d'osmium, qui se fixe fortement aux groupements polaires de tête des phospholipides, révèle la structure en bicouche. Deux lignes sombres fines (les complexes dont les groupements de tête sont marqués) séparées par un espace clair uniforme large d'environ 2 nm (les queues hydrophobes).

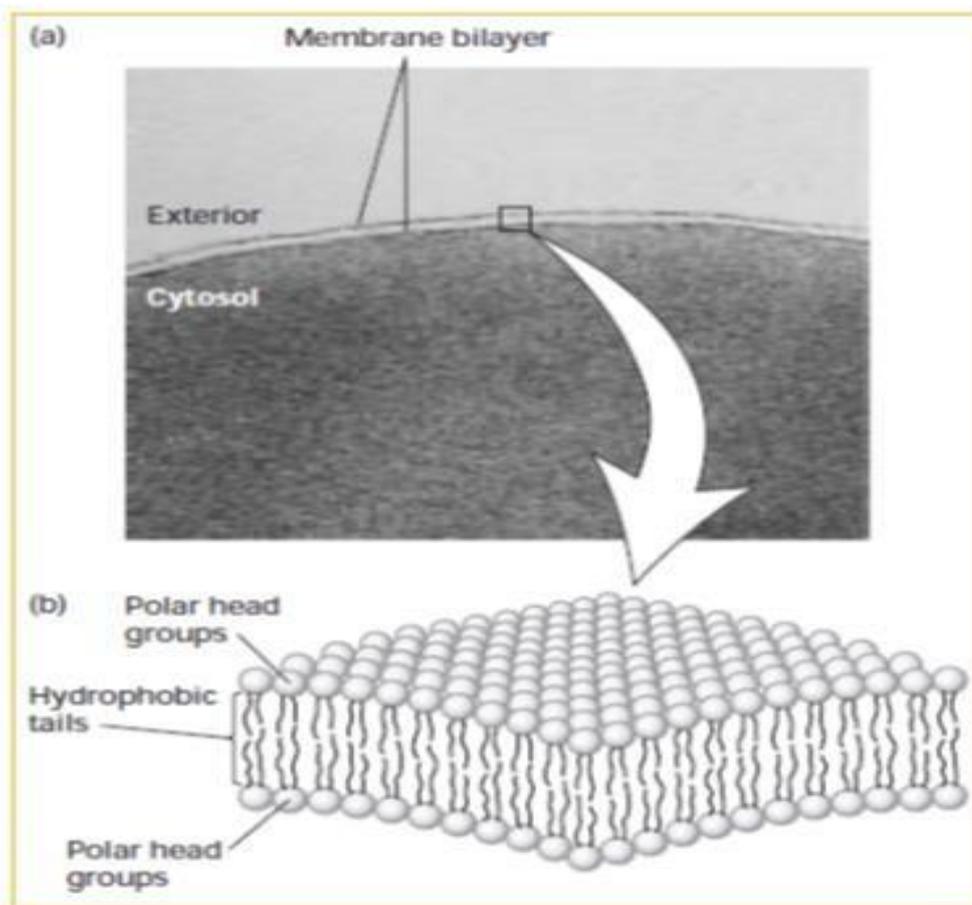


Figure II. 6. La structure en bicouche des biomembranes [8]. (a) correspond à une micrographie électronique d'une coupe fine d'une membrane. L'aspect caractéristique en « voie ferrée » de la membrane indique la présence de deux couches polaires, qui correspondent à la structure en bicouche des membranes phospholipidiques. (b) est une interprétation schématique de la bicouche phospholipidique dans laquelle les groupements polaires sont tournés vers l'extérieur pour protéger les queues hydrophobes d'acides gras de l'eau. Les interactions hydrophobes et de Van der Waals entre les queues d'acides gras sont à l'origine de l'assemblage de la bicouche.

II. Le modèle membranaire « en mosaïque fluide »

Dans les années 1970, Singer et Nicolson, élaborent le modèle de la « mosaïque fluide » qui suggère que la membrane plasmique est composée d'une bicouche lipidique fluide hébergeant différentes protéines membranaires. Les lipides sont organisés en une bicouche faite de phospholipides et de cholestérol, dans laquelle il existe plusieurs protéines (intrinsèques et périphériques).

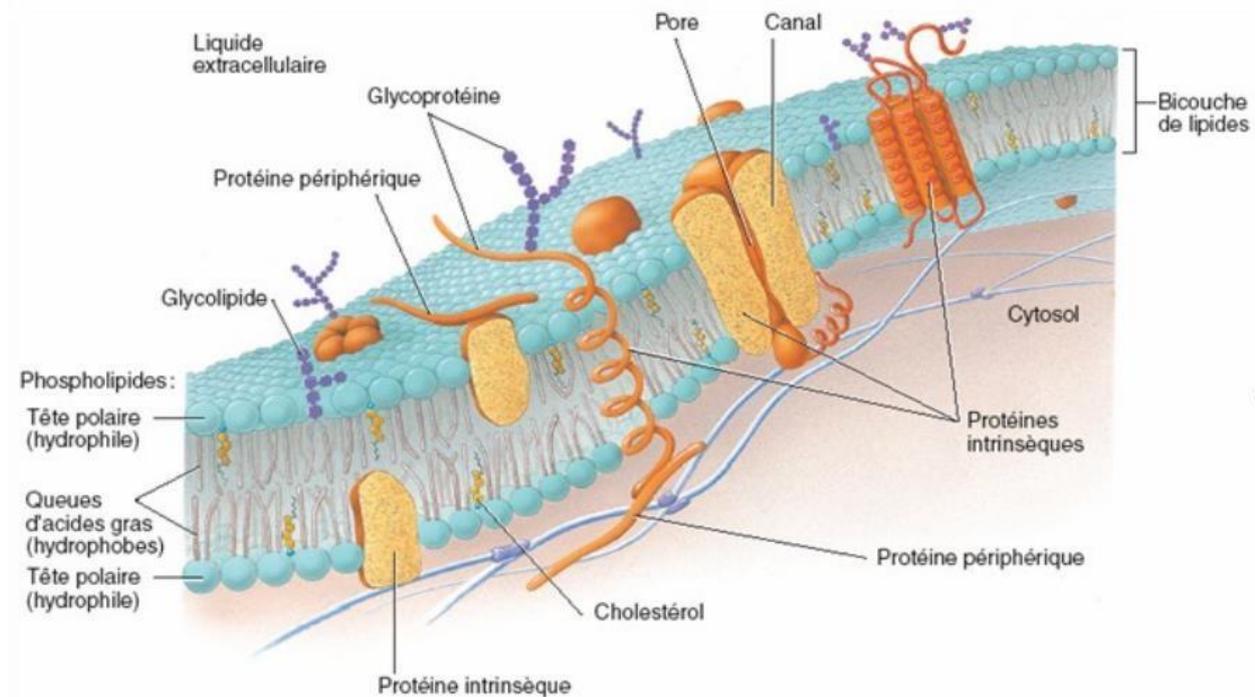


Figure II. 7. Modèle de membrane plasmique en mosaïque fluide [9].

III. Les caractéristiques du modèle en mosaïque

1. **La membrane est mosaïque** : car elle est constituée de la juxtaposition d'éléments différents : deux couches de lipides dans lesquelles s'insèrent des protéines globulaires.
2. **La membrane est fluide** : ce sont des structures quasi fluides dans lesquelles les lipides et les protéines intégrées sont capables de mouvements de translation à l'intérieur de la couche bilamellaire entière.

Facteurs conditionnant la fluidité de la MP :

- **La température** : dont l'augmentation entraîne une accélération des mouvements.
- **La quantité de cholestérol** : le cholestérol renforce la solidité et rigidité membranaire et correspond jusqu'à 50% des lipides totaux de la membrane.

- **La composition en acides-gras** : plus les chaînes carbonées des acides-gras sont courtes et insaturées plus la membrane est fluide.
- **Le nombre de protéines** : les protéines diminuent la fluidité membranaire.

3. La membrane est asymétrique :

Toutes les membranes biologiques sont constituées de feuillettes dont les compositions lipidiques sont différentes, sauf le cholestérol qui se trouve en quantité équivalente dans l'un ou l'autre des feuillettes, pouvant basculer facilement de l'un à l'autre.

- Le feuillet interne est caractérisé par les phosphatidyl-sérine (amphotère) et phosphatidyl-éthanolamine (charge négative).
- Le feuillet externe est caractérisé par la sphingomyéline (charge négative) et la phosphatidyl-choline (charge négative) et les glycolipides.

L'asymétrie des lipides entraîne ainsi une asymétrie de la charge globale de chaque feuillet. On visualise également une asymétrie des protéines présente dans la double couche phospholipidique ; ces protéines participent à caractériser les propriétés de la membrane, que cela soit du côté intracellulaire ou extracellulaire.

La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides, en effet tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique forme ce que l'on appelle le glycocalix.

IV. Auto-assemblage des lipides

Lorsque les lipides membranaires sont en phase aqueuse, ils peuvent s'organiser de plusieurs manières différentes :

- **Les monocouches** : sont des couches mono-moléculaires dont les têtes hydrophiles sont dirigées vers le milieu aqueux et les queues hydrophobes vers le milieu lipidiques.
- **Les micelles** : sont des formations sous la forme de gouttelettes rondes, où dans un milieu aqueux les têtes hydrophiles ; sont dirigées vers l'extérieur de la sphère et les queues hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur (dans un milieu lipidique la conformation est inverse). On les obtient suite à des traitements de la membrane plasmique par des détergents.
- **Les bicouches lipidiques** : les têtes polaires sont dirigées vers l'extérieur, en contact avec le milieu aqueux. Les queues apolaires sont dirigées vers le centre, elles font des

interactions hydrophobes entre elles et sont protégées du milieu aqueux grâce aux têtes polaires.

- **Les liposomes** : ont la forme de petites vésicules sphériques délimitées par une double couche lipidique et remplies de milieu aqueux. Les liposomes sont actuellement utilisés en thérapeutique pour encapsuler des substances médicamenteuses.

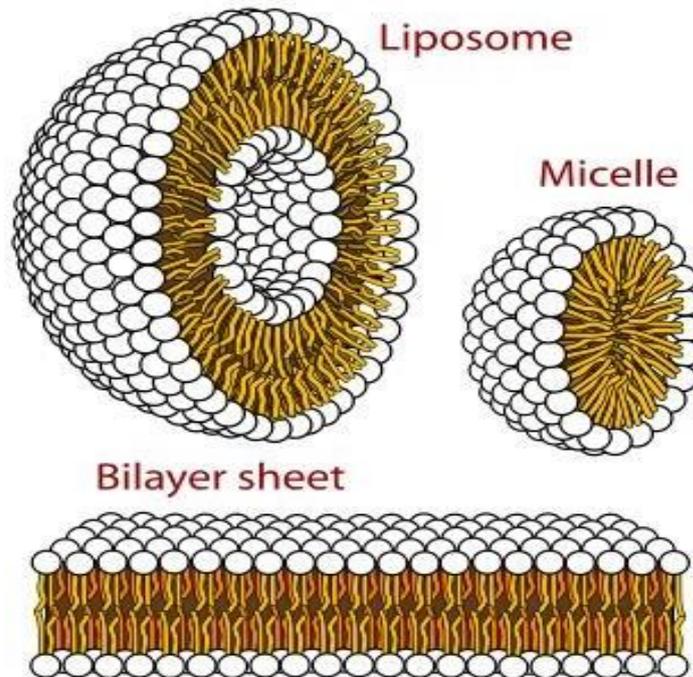


Figure II. 8. Assemblage membranaire [10].

V. Mouvements des lipides

Les lipides membranaires présentent trois types de mouvements :

- La diffusion latérale dans le plan du feuillet lipidique avec une vitesse élevée (un lipide peut changer de place avec son voisin 7×10^{10} /seconde).
- La rotation sur place des lipides est aussi fréquente.
- Le passage d'un feuillet à un autre est plus rare soit moins d'une fois par semaine (phénomène de Flip-flop des lipides grâce à une protéine spécialisée ou flippase et consomme de l'énergie) le cholestérol passe facilement d'un feuillet à l'autre.

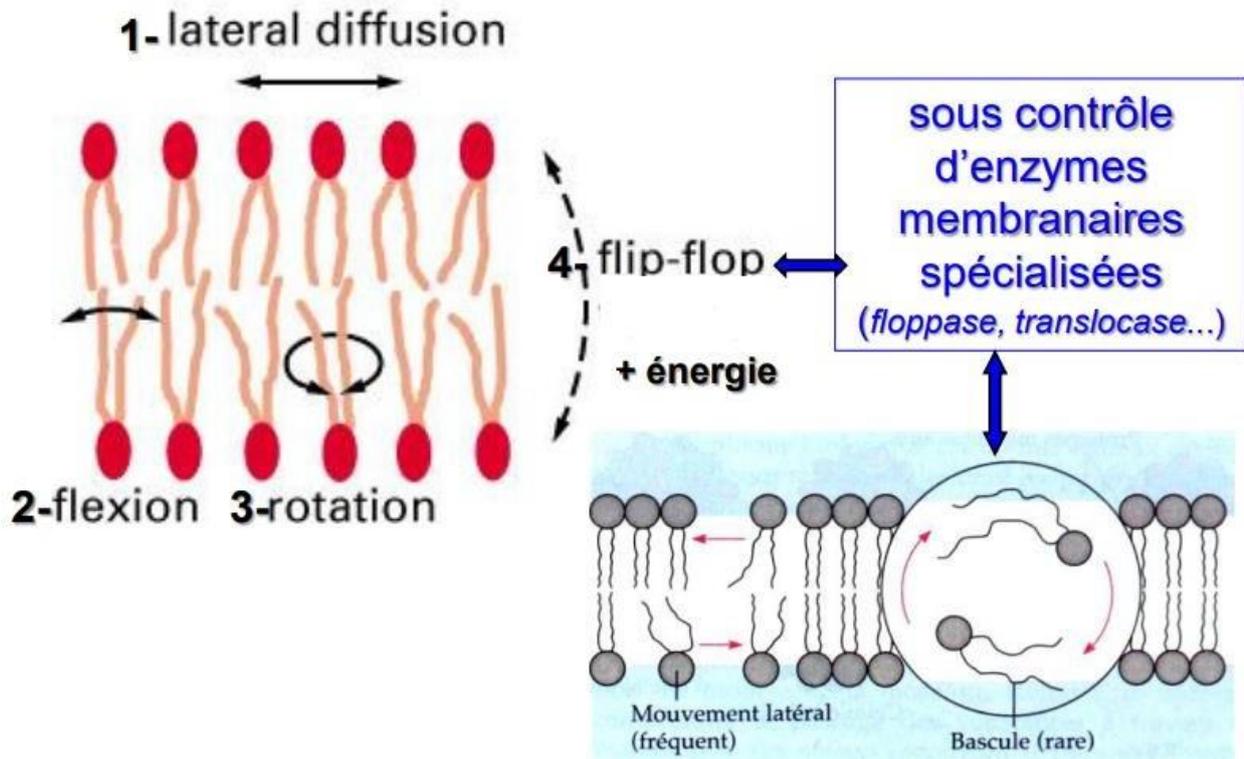


Figure II. 9. Types de mouvement des lipides membranaires [11].

VI. Mouvements des protéines intrinsèques

- La rotation sur place des protéines est comparable à celle des lipides.
- Le phénomène de flip-flop des protéines membranaires n'existe pas.
- Le phénomène le plus important pour la physiologie cellulaire est celui de la diffusion latérale de certaines protéines.
- Les mouvements de certaines protéines transmembranaires peuvent être limités ou interdits par des mécanismes qui peuvent par ailleurs être associés comme par exemple leur ancrage au cytosquelette par les protéines extrinsèques de la face cytosolique, leur interaction avec les constituants de la matrice extracellulaire, ou l'interaction avec d'autres protéines de même type dans la membrane ou encore avec des molécules portées par deux cellules en contact ou jointives.